

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 11-094812

(43)Date of publication of application : 09.04.1999

(51)Int.Cl.

G01N 30/08
G01N 30/00
G01N 30/48
G01N 30/88

(21)Application number : 09-273273

(71)Applicant : ASAHI BREWERIES LTD

(22)Date of filing : 22.09.1997

(72)Inventor : IKEDA MITSUO
FURUHASHI RYOICHI
KIKUCHI KAORI
MOCHIZUKI NAOKI

(54) DETECTION OF DIOLS IN BEVERAGE

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To efficiently and simply analyze diols such as propylene glycol or the like by supplying a sample of a beverage or the like to a solid phase extraction column and eluting an adsorbing substance by an org. solvent to appropriately treat the same to measure the eluted and treated substance by gas chromatography or the like.

SOLUTION: For example, an internal standard or ammonium sulfate is added to beer from which carbon dioxide is preliminarily removed to prepare a sample soln. and, for example, Extrelut (registered trademark) is used to supply the sample soln. After the sample soln. is appropriately held, for example, it is eluted by ethyl acetate/ethanol (80:20) and the eluate is evaporated to dryness to be dissolved in ethanol and this soln. is analyzed by capillary gas chromatography. This method can be adapted to propylene glycol, ethylene glycol, butane diol or the like and, for example, by measuring propylene glycol using ethylene glycol as an internal standard, the mixing with propylene glycol frequently used as a cooling medium in a beer producing process can be accurately inspected.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 21.07.1999

[Date of sending the examiner's decision of rejection] 05.03.2002

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-94812

(43) 公開日 平成11年(1999) 4月9日

(51) Int.Cl.⁸

識別記号

F I

G 0 1 N 30/08

G 0 1 N 30/08

G

30/00

30/00

E

30/48

30/48

K

30/88

30/88

C

審査請求 未請求 請求項の数 4 F D (全 5 頁)

(21) 出願番号

特願平9-273273

(71) 出願人

000000055

アサヒビール株式会社

東京都中央区京橋3丁目7番1号

(22) 出願日

平成9年(1997) 9月22日

(72) 発明者

池田 満雄

東京都墨田区吾妻橋1-23-1 アサヒビ

ール株式会社開発企画部内

(72) 発明者

古橋 良一

東京都太田区大森北2-13-1 アサヒビ

ール株式会社東京工場内

(74) 代理人

弁理士 舟橋 榮子

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 飲料中のジオール類の検出法

(57) 【要約】

【課題】 ジオール類を含む飲料から、効率良く、かつ簡便にジオール類を抽出そして検出する方法を提供する。

【解決手段】 ジオール類を含む飲料を固相抽出カラムに供し、有機溶媒にて溶出、濃縮して得た抽出液からジオール類を検出することを特徴とする飲料中のジオール類の検出方法。

【特許請求の範囲】

【請求項1】ジオール類を含む飲料を固相抽出カラムに供し、有機溶媒にて溶出、濃縮して得た抽出液からジオール類を検出することを特徴とする飲料中のジオール類の検出方法。

【請求項2】プロピレングリコール、エチレングリコール、ブタンジオールのジオール類のうち、少なくとも1種を検出することと特徴とする請求項1記載のジオール類の検出方法。

【請求項3】飲料がビールである請求項1記載のジオール類の検出方法。

【請求項4】固相抽出カラムがExtrelut（登録商標）Columnである請求項1記載のジオール類の検出方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】飲料中のジオール類の検出方法、さらにはビールからのジオール類の検出方法に関する。

【0002】

【従来の技術】酵母はグルコースなどの糖分を分解して、エタノールと二酸化炭素を生成する以外に、その複雑な代謝機構によって少量ながら、発酵生成物や原料に含まれる種々の物質を変換して、醸造物に特有の香味を付与している。ビール酵母発酵生成物はビールの香味に重要な役割を持ち、ビールの品質管理上興味を持たれる化合物である。麦汁に含有されているビルビクアルデヒドやヒドロキシアセトン（アセトール）がビール酵母中の還元酵素により、プロピレングリコール（1, 2-プロパンジオール）に変換されることが知られている。

（Hardwick, B. C., et al.: J. Am. Soc. Brew. Chem., 34, 65-67 (1976); Markl, K. S. and Palamand, S. R.: J. Am. Soc. Brew. Chem., 36, 56-58 (1976); Guether, V. H. et al.: Angew. Chem. 95, 325-326 (1993)）。

【0003】一方、プロピレングリコールはビールをはじめとする各種醸造工程における冷却装置の冷媒として広く用いられている。ビール醸造工程においては、麦汁冷却時のプレートクーラー及び発酵、貯酒、濾過溜タンクの冷却用に用いられているため、これら冷却装置に亀裂もしくはピンホールの生じた場合、冷媒であるプロピレングリコールが漏れてビールに混入する可能性がある。

【0004】従来、ビールに混入したプロピレングリコールの分析については、ビールからプロピレングリコールを抽出し、ガスクロマトグラフィーで検出する方法が用いられている。プロピレングリコールをビールから抽出する方法には、ビールを硫酸アンモニウムで飽和さ

せ、アセトンを添加、振とう・分液後、有機層を回収・濃縮する方法のほかは知られていない。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】しかし、上記方法では抽出操作は簡便ではなく、その抽出効率はずしも満足するものではなかった。その理由はプロピレングリコールのような水溶性物質を水溶液から有機溶媒で抽出することが難しいこと、さらにはビールのような多様な成分が混在する試料から抽出する場合、有機溶媒層と水層の間にエマルジョンが生じ、完全な2層間の分離が困難であるためと考えられる。従って、本発明の目的はプロピレングリコールをはじめとするジオール類を含む飲料、とくにビールから、効率良く、かつ簡便にジオール類を抽出して検出する方法を提供することにある。

【0006】

【課題を解決するための手段】以上の実状に鑑み、本発明者らが鋭意検討を行った結果、ジオール類を含む飲料を固相抽出カラムに供し、有機溶媒にて溶出、濃縮することにより、効率良く、かつ簡便にジオール類を抽出できることを見だし、本発明を完成させるにいたった。

【0007】すなわち、本発明はジオール類を含む飲料を固相抽出カラムに供し、有機溶媒にて溶出、濃縮して得た抽出液からジオール類を検出することを特徴とする飲料中のジオール類の検出方法である。さらには、プロピレングリコール、エチレングリコール、ブタンジオールのジオール類のうち、少なくとも1種を検出することを特徴とする飲料中のジオール類の検出方法、飲料がビールであるジオール類の検出方法、そして固相抽出カラムがExtrelut(r) Columnであるジオール類の検出方法である。

【0008】

【発明の実施の形態】本発明の分析に使用できる飲料には、ビール、清酒、ウキスキー、ワインその他リキュール類を含む酒類、果汁、炭酸飲料、果汁入り炭酸飲料、コーヒー飲料等の飲料などあげられる。とくに本発明はビール中のプロピレングリコールを効率的かつ簡便に抽出するのに適している。また、製品ビールばかりでなく、ビールの醸造の過程で得られる半製品である麦汁、若ビール等にも適用できる。

【0009】あらかじめ炭酸ガスを脱気したビール3mlをとり、硫酸アンモニウム2gを加えて飽和させる。硫酸アンモニウムを加えることで有機溶媒との水相との間の分離がしやすくなる。内部標準としてエチレングリコール水溶液（1500ppm）0.5mlを添加し、試料溶液とする。本発明を完成させるにあたり、ビール中のプロピレングリコールの最適の回収率が得られる抽出条件、等を検討をするために、内部標準とともにプロピレングリコール60μgを加え試料溶液とし、添加回収実験を行った。次いで、試料溶液を固相抽出カラムに供し、15分間保持し、カラム担体に十分吸着させる。

これを所定量の有機溶媒を用いて溶出した。得られた溶出液を所定の方法で濃縮し、有機溶媒に溶解して、分析試料とする。この分析試料をガスクロマトグラフィーにて分析して、ビール中のプロピレングリコール量を測定する。

【0010】固相抽出カラムは各種市販されている。ガラス又は多孔性樹脂にて成形された長さ20cm程度、直径2cm程度のカラムにシリカゲルを基本とした有機物吸着能を有する担体を均一に充填されており、カラムの一方が口が狭くなっており、他方から有機溶媒を流して吸着担体を通ってきた溶出液が一定速度で落下するようになっている。市販されている固相抽出カラムであれば、使用に制限はないが、特に好ましいのはExtrelut（登録商標）Column（Merck社製）である。Extrelut（登録商標）Columnを用いた固相抽出法に関しては、尿中のニコチン、コチニンの同時定量（水沼寛，平山靖子，桜井諭，池川信夫：衛生化学，28，13-17（1982））、尿及び血漿試料中のD2ニコチンの微量定量（東栄吾，指熊文子，井谷舜郎，村中日出夫：衛生化学，32，276-280（1986））、ワイン中のジエチレングリコールの定量（Uchiyama, S., Kawamura, Y., Maitani, T., Suzuki, T., Isikawa, T., Saito, Y.: J. Food Hyg. Soc. Japan., 28, 283-287（1986））などの報告がある。Extrelut（登録商標）Columnは珪藻土を充填したカラムで、試料中の水を多孔性表面に保持して固定相を形成し、同時に水に溶解している多くの化合物をカラム上に保持することができる。次に有機溶媒を移動相に用いて溶出すると、固定相から抽出が可能となり、液-液抽出の際に生ずるエマルジョンなどを伴うことなく、目的の化合物を効率よく抽出することができる。

【0011】固相抽出カラムに試料を吸着後、吸着した成分を溶出するために用いる有機溶媒としては、酢酸エチル、ジエチルエーテル、ジクロロメタン、クロロホルムがあげられるが、特に酢酸エチルが好適である。ヘキサンは全く抽出力がない。また、左記有機溶媒を組み合わせ、例えば酢酸エチルとジエチルエーテルの混合溶媒を用いることもできる。さらに好適なのは、酢酸エチルとアルコールの混合溶媒である。アルコールとしてはエタノール、プロパノール、イソプロパノール、n-ブタノールがあげられるが、特にエタノールが好適である。さらに酢酸エチルとエタノールの混合比は80:20（V/V）が最適であり、最も高いプロピレングリコールの回収率を示す。しかし、これ以上エタノールの割合を増やすと、固定相に吸着した水が溶離し、好ましい結果を与えない。

【0012】溶出液の液量は10~30mlが望ましく、20mlが最適である。液量が10mlより少ない

場合は回収率が極端に落ちる。溶出液の濃縮はエバポレーターによる減圧乾固、窒素ガスを吹き込み蒸発させ乾固する方法など常法の濃縮手段により行うことができるが、エバポレーターによる減圧乾固が好ましい。乾固後の残渣に有機溶媒を一定量加えて分析試料とする。その際に用いる有機溶媒としてはエタノール、酢酸エチル、ジエチルエーテル、ジクロロメタン、等があげられるが、エタノールが最適である。

【0013】上記の過程を得て調製した分析試料中のプロピレングリコールの測定は常法のガスクロマトグラフィーにより分析できる。さらにはDB-WAX等のフーズシリカゲルコーティングを施したキャピラリーカラムを用いたキャピラリーガスクロマトグラフィーが便利である。

【0014】以上本発明の実施の形態を説明したが、抽出目的とする化合物としては、プロピレングリコールだけではなく、他のグリコール類、例えばエチレングリコールやブタンジオールにも適用できる。本発明の方法では内部標準としてはエチレングリコールを使用するが、実施例に記載のとおりプロピレングリコール同様エチレングリコールの回収率も優れた結果が得られている。また、1,2-ブタンジオール等、ビールに含まれているジオール類の抽出も効率よく実施できることも確認した。

【0015】

【発明の効果】本発明の飲料からのジオール類の検出法を用いることにより、ビールをはじめとする各種飲料からジオール類を効率的且つ簡便に検出できる。中でもプロピレングリコールは特にビールの製造過程において冷媒として頻繁に使用されるものであり、冷媒が何らかの原因で製品中に混入する可能性がある。ビールの品質管理上、冷媒の混入の発見は重要な検査項目であり、本発明の方法はその検査の精度向上に大きく貢献する方法である。

【0016】

【実施例】次に、本発明を実施例および比較例により詳しく説明するが、本発明はこれら実施例に限定されるものではない。

比較例 アセトン液-液抽出法（従来法）によるプロピレングリコール抽出

ビール100mlにプロピレングリコール2mgを加えた試料に、アセトン10mlを加え、次に内標としてエチレングリコール溶液を50ppm添加した後、5分間振盪した。静置後、スピッツ管に上清10mlを採取し、遠心分離した。上清4mlを採取し、エバポレーターで減圧乾固後、ジクロロメタン2mlで再溶解し、これをガスクロマトグラフィー分析に供した。回収率5%であった。分析条件を以下に示す。なお、本発明におけるプロピレングリコールの分析はすべてこの方法で行った。

＜ガスクロマトグラフィーによるプロピレングリコール * グリコールを以下の条件で測定した。
の測定＞上記の方法で調製した分析試料中のプロピレン* 【0017】

装置 : FID検出器付きガスクロマトグラフHP5890
(ヒューレットパッカード社製)
カラム : DB-WAX (0.25mm i. d. ×30m, 0.25μm FT) (J&W社製)
線速度 : 38cm/s (ヘッドプレッシャー150KPa)
注入口温度: 230℃
検出器温度: 250℃
注入試料量: 2μl (スプリットレス)
昇温条件 : 試料注入後40℃にて5分間維持した後、毎分4℃の条件で150℃まで昇温した。次いで毎分10℃で230℃まで昇温し10分間維持した。

【0018】実施例1 Extrelut (登録商標) Columnによるプロピレングリコールの抽出
Extrelut (登録商標) Columnによるプロピレングリコールの抽出条件の検討について以下に述べる。

(1) 抽出溶媒の選択

まず、Extrelut (登録商標) Columnに保持されたプロピレングリコールを効率よく溶出する溶媒の検討を行った。ガス抜きビール3mlに既知量(60μg)のプロピレングリコールを加え、硫酸2g、内部標準としてエチレングリコール水溶液(1500ppm)0.5mlを加えて試料溶液とした。試料溶液をExtrelut (登録商標) Columnに供し15分間保持後、通常使用される各種溶媒20mlで溶出し、添加したプロピレングリコールの回収率を調査した。その結果、酢酸エチルでの回収率は42%であった。さらに溶出効率を上げるために酢酸エチルをベースに他の溶媒を加えた混合溶媒で同様に回収試験を行ったところ、表※

※1に示すように酢酸エチル-エタノール(80:20)による回収率が最も高く、95%であった。同様に内部標準のエチレングリコールも最高の回収率で得られた。酢酸エチル-エタノールの至適組成比を調査するため、既知量(60μg)のプロピレングリコールを加えたビール3mlをカラムに供し、組成比の異なる各種溶媒20mlで溶出後、ガスクロマトグラフィーで定量し、得られたピーク面積を比較した。酢酸エチル-エタノール(65:35)で溶出すると最も大きいピーク面積が得られたが、25%以上のエタノールを含む混合溶媒を用いると、目的成分とともにExtrelut (登録商標) Columnの固定相である一部の水相も溶出してくることがわかった。そこで、固定相水相の溶出が少なく、かつ効率よくプロピレングリコールが回収される酢酸エチル-エタノール(80:20)を溶出溶媒として選択した。

【0019】

表1 溶出溶媒によるプロピレングリコール及び内部標準の回収率

溶出溶媒	内部標準 (エチレングリコール)	
	回収率 (%)	回収率 (%)
ヘキサン	0	0
クロロホルム	10	6
ジクロロメタン	9	0
ジエチルエーテル	23	16
酢酸エチル	42	22
酢酸エチル-ジエチルエーテル (50:50)	36	17
酢酸エチル-イソプロピルアルコール (50:50)	69	59
ジエチルエーテル-エタノール (80:20)	92	70
酢酸エチル-ジエチルエーテル (80:20)	97	95

【0020】(2) 溶出量の最適化

上記の酢酸エチル-エタノール(80:20)を用い、

溶出量を3~30mlの6段階に変えて、それぞれについてカラムに保持されたプロピレングリコールの回収率

を調べた。カラムに保持されたプロピレングリコールは酢酸エチル-エタノール(80:20)20mlでほぼ全量溶出されることがわかった。

【0021】(3)抽出方法の確立

以上で得られた結果から、Extrelut(登録商標)Columnによるビール中のプロピレングリコールの抽出方法を次のように確立した。ガス抜きビール3ml、硫酸2g、内部標準としてエチレングリコール水溶液(1500ppm)0.5mlを加えて試料溶液とする。試料溶液をExtrelut(登録商標)Columnに供し、15分間保持後、酢酸エチル-エタノール(80:20)20mlで溶出し、溶出液をエバポレーターで減圧乾固する。得られた残渣をエタノール1mlで溶解し、分析試料とした。

【0022】実施例2 標準添加法によるプロピレングリコール検量線の作成

*

*ビール3mlにプロピレングリコール標準溶液を5~20ppm相当添加し、得られたクロマトグラムより内部標準に対するプロピレングリコールのピーク面積を求めたところ、直線性のある検量線が作成できた。最小二乗法によって求めたプロピレングリコールの回帰直線は $y = 0.307x$ (y : 内部標準に対するプロピレングリコールの内標比, x : プロピレングリコール濃度, $r^2 = 0.999$)であった。また、ビール3mlに既知量(60 μ g)のプロピレングリコールを加え、本法で繰り返し($n=5$, 3日間)分析を行い、精度を調べた結果、日間精度は変動係数で6.8%と良い精度が得られた。同様に麦汁3mlに既知量(60 μ g)のプロピレングリコールを加え、本法で繰り返し($n=3$)分析を行い、日内精度は変動係数で7.1%と良い精度であった。

フロントページの続き

(72)発明者 菊池 かおり

茨城県北相馬郡守谷町緑1-1-21 アサヒビール株式会社研究開発センター酒類研究所内

(72)発明者 望月 直樹

福島県安達郡本宮町大字荒井字上前畑1-11 アサヒビール株式会社福島工場内